

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

MLÉČNÉ BAKTERIE A JEJICH VYUŽITÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

IVANA JIŘÍKOVÁ

BRNO 2009



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ
FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

MLÉČNÉ BAKTERIE A JEJICH VYUŽITÍ

LACTIC ACID BACTERIA AND THEIR UTILIZATION

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

IVANA JIŘÍKOVÁ

VEDOUcí PRÁCE
SUPERVISOR

Ing. LIBOR BABÁK, Ph.D.

BRNO 2009



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce:	FCH-BAK0351/2008	Akademický rok: 2008/2009
Ústav:	Ústav chemie potravin a biotechnologií	
Student(ka):	Ivana Jiříková	
Studijní program:	Chemie a technologie potravin (B2901)	
Studijní obor:	Biotechnologie (2810R001)	
Vedoucí bakalářské práce:	Ing. Libor Babák, Ph.D.	
Konzultanti bakalářské práce:	Ing. Jana Piechová	

Název bakalářské práce:

Mléčné bakterie a jejich využití

Zadání bakalářské práce:

1. Cytologie mléčných bakterií
2. Výskyt a význam
3. Možnosti průmyslového využití mléčných bakterií

Termín odevzdání bakalářské práce: 29.5.2009

Bakalářská práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

Ivana Jiříková
Student(ka)

Ing. Libor Babák, Ph.D.
Vedoucí práce

doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.12.2008

doc. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce je zaměřena na studium mléčných bakterií. V rámci práce byla provedena rešerše shrnující poznatky o těchto bakteriích. První část je zaměřena na obecnou identifikaci bakterií a rozdělení do jednotlivých rodů, dále je popsána cytologie, metabolismus a průmyslové využití bakterií mléčného kvašení.

ABSTRACT

This bachelor thesis is aimed at the study of lactic acid bacteria. Within the frame of this thesis I have performed a literature research into findings about these bacteria. The first section is focused on the general bacteria identification and division into separate genus groups. It also describes the cytology, metabolism and industrial use of milk fermentation bacteria.

KLÍČOVÁ SLOVA

Bakterie mléčného kvašení, fermentace, fermentované potraviny

KEYWORDS

Lactic acid bacteria, fermentation, fermented foods

JIŘÍKOVÁ, I. *Mléčné bakterie a jejich využití*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2009. 37 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Libor Babák, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

*Děkuji Ing. Liborovi Babákovi, Ph.D. za pomoc
a odborné vedení během psaní mé bakalářské práce.*

OBSAH

1	ÚVOD	7
2	TEORETICKÁ ČÁST	8
2.1	Mléčné bakterie	8
2.1.1	Mikroorganismy	8
2.1.2	Historie	8
2.1.3	Výskyt	9
2.1.4	Vlastnosti mléčných bakterií	9
2.1.5	Nároky na výživu	9
2.1.6	Jednotlivé rody mléčných bakterií	9
2.1.6.1	Rod <i>Lactococcus</i>	10
2.1.6.2	Rod <i>Streptococcus</i>	10
2.1.6.3	Rod <i>Enterococcus</i>	11
2.1.6.4	Rod <i>Lactobacillus</i>	12
2.1.6.5	Rod <i>Leuconostoc</i>	13
2.1.6.6	Rod <i>Pediococcus</i>	14
2.1.6.7	Rod <i>Bifidobacterium</i>	15
2.2	Cytologie mléčných bakterií	16
2.2.1	Morfologie mléčných bakterií	16
2.2.1.1	Velikost bakteriálních buněk	16
2.2.1.2	Základní tvary bakteriálních buněk	16
2.2.2	Buněčná struktura bakterií	17
2.2.2.1	Buněčná stěna	18
2.2.2.2	Cytoplazmatická membrána	18
2.2.2.3	Cytoplazma	19
2.2.2.4	Bakteriální jádro	20
2.2.2.5	Ribosomy	20
2.2.2.6	Plazmidy	21
2.2.2.7	Inkluze	21
2.2.2.8	Bičíky	21
2.2.3	Fyziologické vlastnosti mléčných bakterií	21
2.3	Metabolismus mléčných bakterií	23
2.3.1	Fermentace	23
2.3.2	Glykolýza	24
2.3.3	Mléčné kvašení	24
2.3.3.1	Homofermentace	24
2.3.3.2	Heterofermentace	25
2.4	Možnosti využití bakterií mléčného kvašení	26
2.4.1	Mléko	27
2.4.2	Jogurty	28
2.4.3	Sýry a tvaroh	29
2.4.4	Fermentovaná zelenina	30
2.4.5	Fermentované maso, uzeniny, salámy	30
2.4.6	Kvašení alkoholových nápojů	31
2.4.7	Kvašení pekařského těsta	31
3	ZÁVĚR	33

4	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	34
5	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	37

1 ÚVOD

Bakterie mléčného kvašení (LAB) jsou velmi rozmanitou a rozsáhlou skupinou mikroorganismů, které zasahují do našeho života.

LAB jsou skupinou grampozitivních bakterií, které vylučují kyselinu mléčnou jako hlavní fermentační produkt do okolí. Mléčné bakterie se dělí jak na homofermentativní, tak na heterofermentativní druhy. Vzhledem k poměrně nízkému energetickému výnosu, rostou mléčné bakterie často pomaleji než mikroby schopné dýchání, a vytvářejí kolonie 2–3 mm veliké. Bakterie mléčného kvašení se řadí do skupiny mezofilních mikroorganismů. Vyžadují obecně složité nutriční požadavky, jelikož nemají mnoho biosyntetických schopností. Většina druhů má náročné požadavky na aminokyseliny a vitaminy.

LAB jsou široce využívány v zemědělsko-potravinářském průmyslu, také jsou součástí běžné mikroflóry člověka i zvířat. Většina druhů bakterií mléčného kvašení je považována za bezpečné vzhledem k jejich dlouhé historii využívání v potravinářských produktech.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Mléčné bakterie

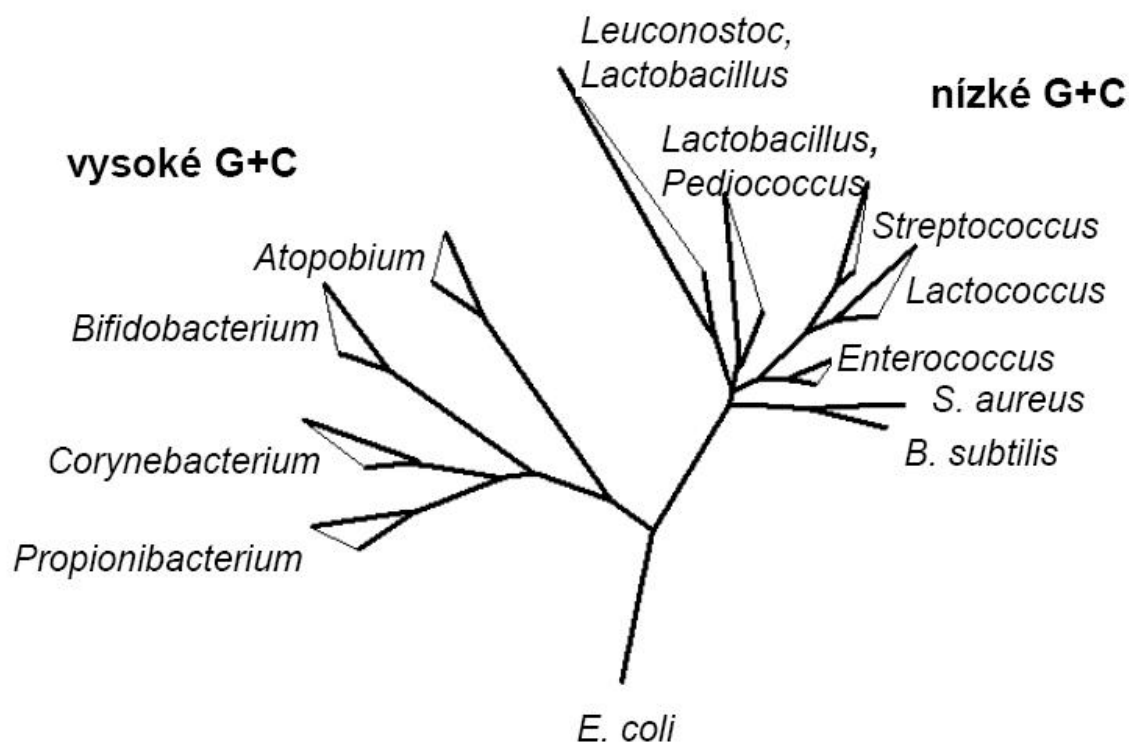
V klasické monografii Dána Orla-Jensena (1919) pojednávající o bakteriích mléčného kvašení se hovoří: „Pravé bakterie mléčného kvašení tvoří velkou přirozenou skupinu nepohyblivých, nesporelujících grampozitivních koků a tyčinek, které fermentují sacharidy za fakultativně anaerobních (mikroaerofilních) podmínek a tvoří přitom hlavně kyselinu mléčnou.“ Tato koncepce bakterií mléčného kvašení je v podstatě platná i dnes.[1]

2.1.1 Mikroorganismy

Mikroorganismy jsou často považovány výhradně za škodlivé organismy a vůbec nejsou brány v úvahu i jejich velmi prospěšné vlastnosti. Uplatňují se při výrobě mnohých potravinářských produktů a také jsou jedním z hlavních činitelů ovlivňujících tvorbu a zachování biologické rovnováhy v přírodě. Průmyslově se jejich činnosti využívá nejen v tradičním kvasném a mlékárenském průmyslu, ale také v průmyslu farmaceutickém a v jiných odvětvích lidské činnosti.[2]

2.1.2 Historie

Prokaryotické organismy vznikaly a rozrůžňovaly se pravděpodobně před 3,5 mld. let (viz. Obr.1). Skutečné rozšíření bakterií mléčného kvašení začalo s objevením se savců produkujících mléko, což bylo před 65 mil. let. Bez jakýchkoliv vědeckých znalostí lidé používali po několik tisíciletí mléčné bakterie při přípravě potravin, které se lépe uchovávaly a měly charakteristickou vůni, chuť a texturu podstatně odlišnou od původní potraviny.[3]



Obr. 1: Fylogenetická pozice mléčných bakterií [28]

2.1.3 Výskyt

Bakterie mléčného kvašení se vyskytují v mléčných výrobcích, obilných produktech, masě a rybích výrobcích, v odpadních vodách, pивě, víně, ovoci a ovocných šťávách, v nakládané zelenině, kysaném zelí, siláži, kynutém těstě a sladu. Jsou složkou přirozené mikroflóry v ústech, intestinálním traktu a vagíně mnohých homotermických živočichů, včetně člověka.[4, 5]

2.1.4 Vlastnosti mléčných bakterií

Bakterie mléčného kvašení jsou heterogenní skupinou mikroorganismů, které mohou fermentovat různé živiny za vzniku kyseliny mléčné. Jsou to především chemoorganotrofní, grampozitivní, aerotolerantní nebo anaerobní, nesporeující bakterie. Tyto chemoorganotrofní mikroorganismy získávají energii oxidací organických sloučenin, jichž využívají také jako zdroje uhlíku a vodíku k syntéze své buněčné hmoty.[2] Po biochemické stránce se mezi mléčné bakterie zahrnují jak homofermentativní, tak heterofermentativní druhy.

Pro většinu bakterií mléčného kvašení není vzdušný kyslík toxický, rostou proto i za přítomnosti vzduchu. Výjimku tvoří přísně anaerobní bifidobakterie, které rostou při optimální atmosféře s 10 % CO₂. [1] Bakterie mléčného kvašení se řadí do skupiny mezofilních mikroorganismů.

Z potravinářsko-mikrobiologického hlediska má tato skupina bakterií nezanedbatelný potravinářsko-technologický funkční význam.[1]

2.1.5 Nároky na výživu

Bakterie mléčného kvašení vyžadují bohatou nabídku živin a růstových faktorů, které jim v přírodě poskytují intaktní a rozkládající se rostliny a potraviny. Na tyto bohaté zdroje si natolik přivykly, že nemají schopnost syntetizovat určité růstové faktory.[1]

Pro svůj růst potřebují kromě uhlíkatého a dusíkatého zdroje (částečně ve formě aminokyselin) také některé vitaminy skupiny B, růstové látky a minerální soli. Zdrojem uhlíku bývají nejčastěji sacharidy, jako třtinová a řepná sacharosa, syrovátka (neupravená nebo jen s minimální suplementací) obsahující laktosu, maltosu a glukosu z hydrolyzovaného škrobu. Pro průmyslovou výrobu je většinou používána rafinovaná sacharosa a dextrosa.[6]

Nároky bakterií mléčného kvašení sahají tak daleko, že růst a metabolismus některých bakterií odpovídá za standardních podmínek přítomnosti určitého množství určité aminokyseliny nebo vitamínu B v prostředí. Tato skutečnost se využívá na mikrobiologické stanovení některých aminokyselin a vitaminů v potravinách a krmivech.[1]

2.1.6 Jednotlivé rody mléčných bakterií

Dle genotypových, biochemických, fyziologických, sérologických a dalších znaků se tyto mikroorganismy zařazují do systému bakterií. Společným znakem je tvorba kyseliny mléčné z fermentovaných sacharidů. U některých rodů bakterií mléčného kvašení je možné jako identifikační znak použít konfiguraci a optickou otáčivost vzniklé kyseliny mléčné. Z morfologického hlediska se u mléčných bakterií setkáváme s menší pestroostí, nacházíme koky v párech, kratších a delších řetízkách, tyčinky izolované a v řetízkách.[1]

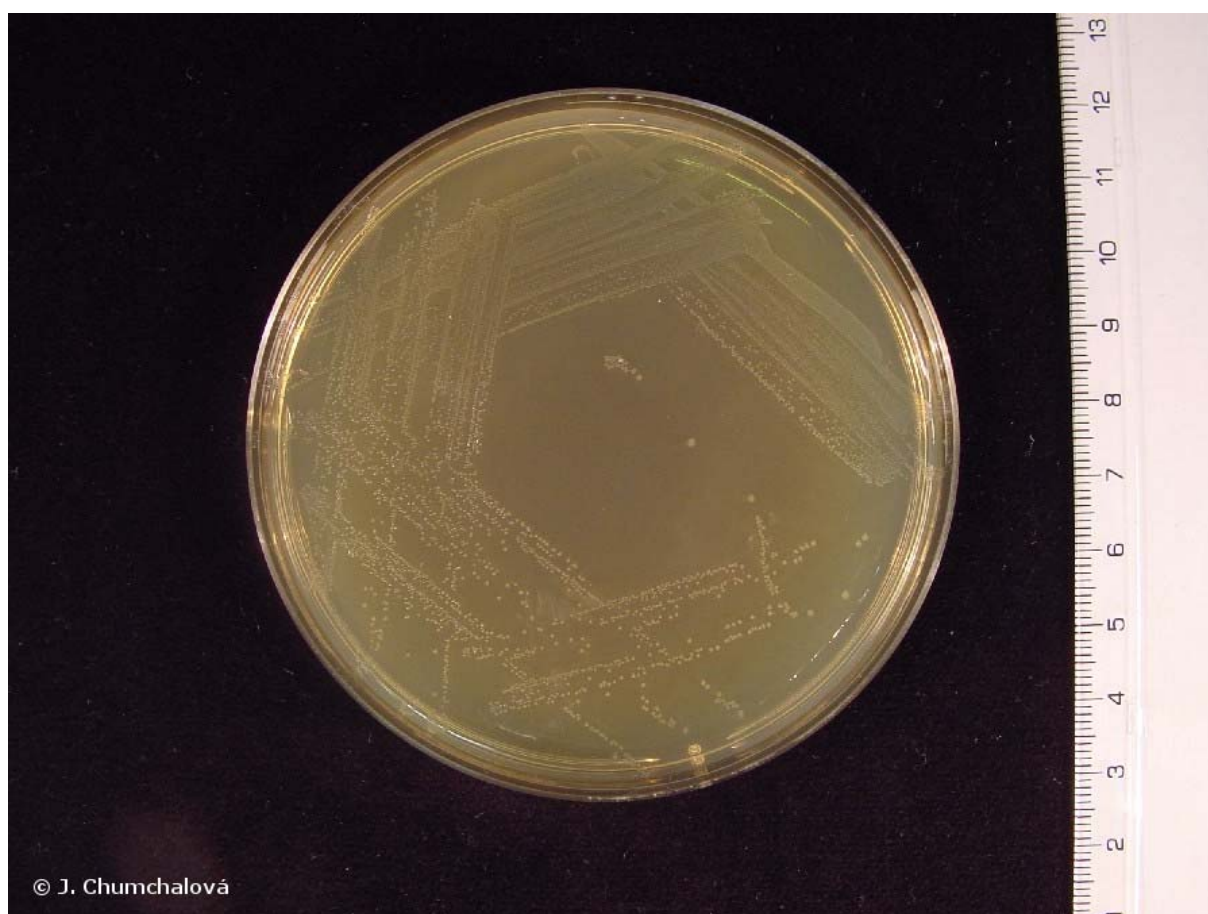
2.1.6.1 Rod *Lactococcus*

V současnosti je známo 5 druhů z rodu *Lactococcus* (*Lactococcus lactis*, *Lactococcus garviae*, *Lactococcus plantarum*, *Lactococcus piscium* a *Lactococcus raffinolactis*). Při studiu starší literatury bývají zahrnuty v mléčné skupině streptokoků.[1]

Mléčné bakterie rodu *Lactococcus* jsou grampozitivní, netvoří spóry, nepohyblivé a bez pouzder. Fakultativně anaerobní, chemoorganotrofní s fermentativním metabolismem, k růstu vyžadují nutričně kompletní média. Využívají množství cukrů a hlavním produktem fermentace je L(+)- kyselina mléčná, ale ne plyn. Kataláza a oxidáza negativní, optimální růstová teplota je 37 °C.[7] Mají kulovitý nebo oválný tvar o průměru 0,5 až 1,0 µm. Nachází se obvykle v párech nebo v řetízcích.[1]

Vyskytují se v mléčných výrobcích (startovací kultury), obecně považovány za nepatogenní pro člověka.[7]

Nejvýznamnějším zástupcem je *Lactococcus lactis* (viz. Obr.2), který je součástí máslašské kultury používané k zakysání smetany. Některé kmeny *Lactococcus lactis* produkují antibiotikum nisin, které se používá jako pomocná látka při konzervaci potravin.[2]



Obr.2: *Lactococcus lactis* [29]

2.1.6.2 Rod *Streptococcus*

Grampozitivní, chemoorganotrofní, fakultativně anaerobní, metabolismus fermentativní. Buňky jsou tvaru koků o velikosti kolem 2 µm. Vyskytují se v párech (diplokoky) nebo mohou tvořit kratší nebo delší řetízky, některé druhy vytváří pouzdra.[3] Jsou nepohyblivé,

netvoří spóry a k růstu vyžadují nutričně bohatá média a někdy i 5% CO₂. Rostou v rozmezí teplot 25 až 45 °C s optimem 37 °C.[7]

Rod *Streptococcus* (viz. Obr.3) má pouze anaerobní katabolický metabolismus a tvoří kyselinu mléčnou jako téměř jediný produkt metabolismu cukrů. Proto se zařazuje mezi homofermentativní mléčné bakterie.[2]

Některé druhy fermentují i organické kyseliny (malonová, citrónová) a aminokyseliny (serin a arginin). Neredukují dusičnany na dusitany.[1]

Druh *Streptococcus cremoris* se uplatňuje v mlékárenství při výrobě másla a smetany.[3]



Obr.3: *Streptococcus thermophilus* [29]

2.1.6.3 Rod *Enterococcus*

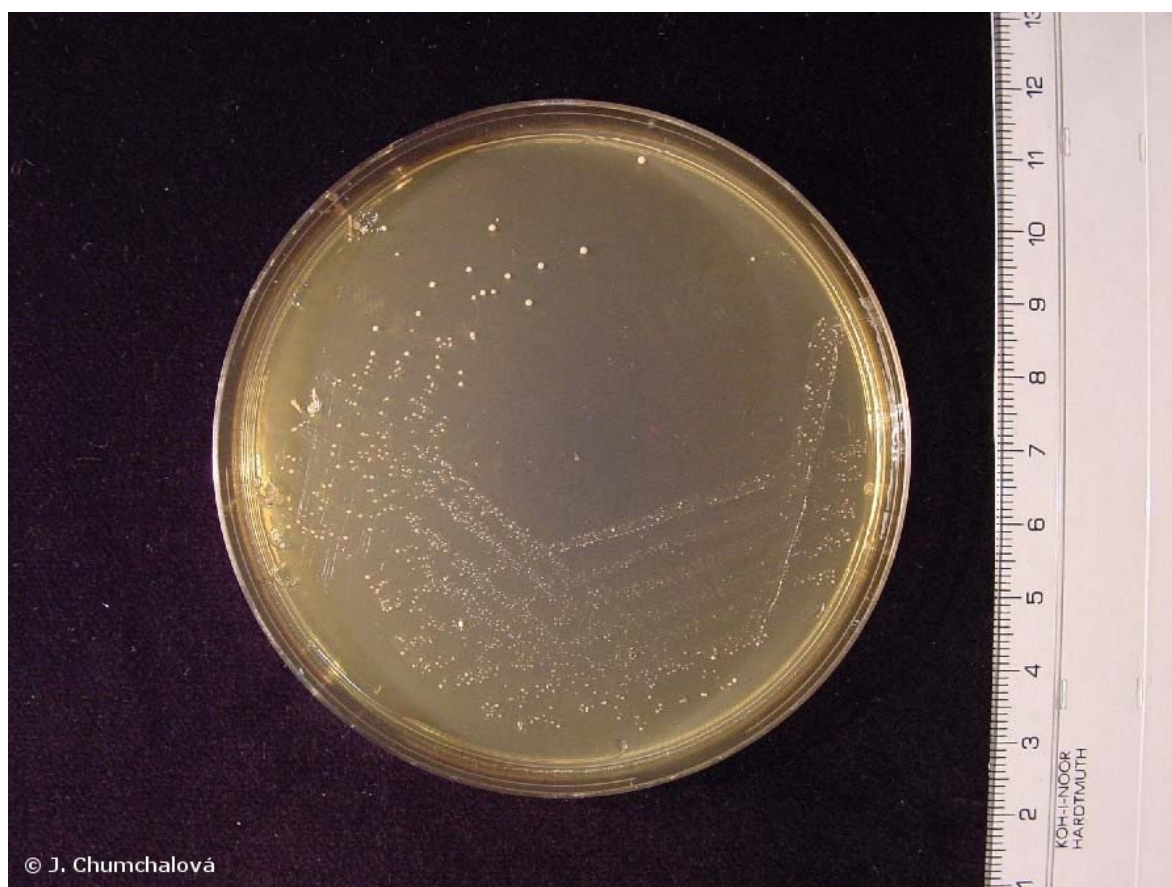
Z rodu *Streptococcus* byly již dříve vyjmuty druhy vyskytující se často ve střevním traktu člověka a jiných savců a byly přearženy do rodu *Enterococcus*. [2]

Buňky sférické nebo ovoidní, vyskytující se po dvou, ve shlucích nebo v krátkých řetězcích. Jsou grampozitivní, nepohyblivé, netvoří spóry, neredukují dusičnan na dusitany, jsou fakultativně anaerobní, kataláza negativní, oxidáza negativní.[8]

Mléčné bakterie rodu *Enterococcus* využívají široké rozmezí sacharidů, hlavním produktem fermentace je L(+)- kyselina mléčná, ale bez tvorby plynu.[7] Někdy se účastní na tvorbě aroma a chuti potravin. Neredukují dusičnan na dusitan, nerozkládají celulózu, pektiny a tuky.[1]

Zástupci z rodu *Enterococcus* jsou široce rozšířeni v prostředí (půda, voda, rostliny), dále ve výkalech obratlovců, v potravinách a v klinickém materiálu.

Mezi zástupce rodu *Enterococcus* patří např.: *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium* (viz. Obr.4). Byly navrženy jako indikátory fekálního znečištění.[2]



Obr.4: *Enterococcus faecium* [29]

2.1.6.4 Rod *Lactobacillus*

Z potravinářského i biotechnologického hlediska je nejdůležitější rod *Lactobacillus* (viz. Obr.5), který je v přírodě velmi rozšířen.[2]

Zástupci rodu *Lactobacillus* jsou grampozitivní, nesporulující, pouze zřídka pohyblivé peritrichálními bičíky. Chemoorganotrofní, kataláza negativní, fakultativně anaerobní, občas mikroaerofilní, metabolismus je fermentativní.[7] Buňky jsou tvaru pravidelných tyček o velikosti 1 až 6 μm , tyčky obvykle delší, občas také kokovité, uspořádané v palisádách nebo krátkých řetězcích. Nikdy netvoří spóry. Vyžadují často velmi náročné půdy, na nichž vytvářejí drobné kolonie s pigmentem žluté až červené barvy. Teplotní optimum pro růst se pohybuje mezi 30–40 °C.[3] Laktobacily jsou velmi náročné na živiny a růstové faktory, neboť jsou přizpůsobené na komplexní přírodní organické substráty. Při svém růstu vyžadují aminokyseliny, peptidy, deriváty nukleových kyselin, vitaminy, soli, mastné kyseliny a sacharidy.[1]

Rod *Lactobacillus* není homogenním rodem, na základě konečných produktů fermentace cukrů je možno dělit laktobacily do tří skupin:

1.skupina = obligátně homofermentativní: hexosy fermentují výhradně na kyselinu mléčnou; pentosy ani glukonát nefermentují (např. druhy *L. delbrueckii*, *L. acidophilus*, *L. helveticus*)

II.skupina = fakultativně heterofermentativní: hexosy fermentují na kyseliny mléčnou, či na směs kyseliny mléčné, octové, mravenčí a ethanolu; pentosy fermentují na kyselinu mléčnou a octovou (např. druhy *L. casei*, *L. plantarum*, *L. sake*)

III. skupina = obligátně heterofermentativní: hexosy fermentují na kyselinu mléčnou, octovou (ethanol) a CO₂; pentosy fermentují na kyselinu mléčnou a octovou (např. druhy *L. buchneri*, *L. fermentum*, *L. kefir*)[7]

Laktobacily při růstu v běžných médiích netvoří charakteristický zápach. V potravinách však přispívají k tvorbě charakteristických chuťových a vonných vlastností tvorbou prchavých látek jako acetaldehydu, biacetylu, kyseliny octové, aminokyselin a v sýrech i H₂S.

Laktobacily (startovací kultury) se obzvláště nacházejí v různých potravinách živočišného nebo rostlinného původu, v nápojích, čisté i znečištěné vodě, kysaném zelí a silážích. Pouze vzácně jsou patogenní.[7]



Obr.5: *Lactobacillus brevis* [29]

2.1.6.5 Rod *Leuconostoc*

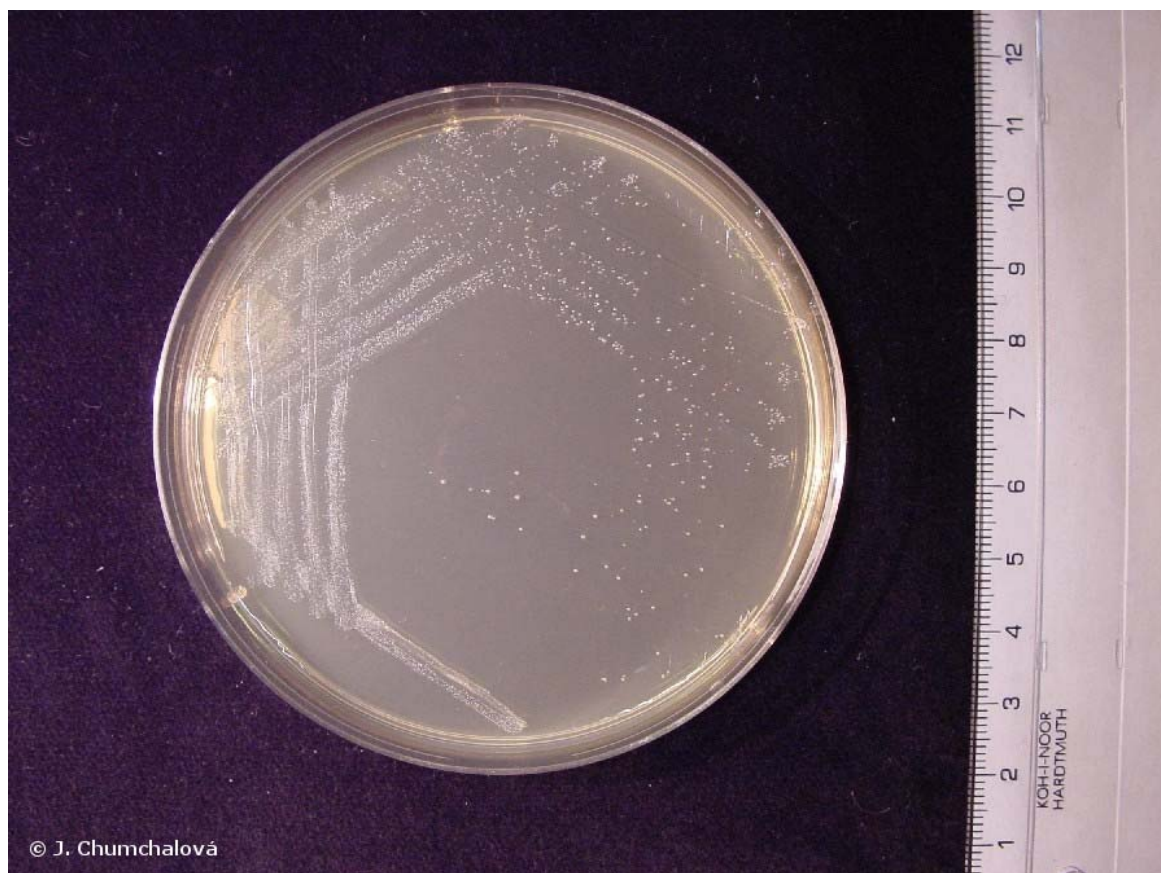
Bakterie z rodu *Leuconostoc* jsou grampozitivní, fakultativně anaerobní, metabolismus fermentativní a chemoorganotrofní. Koky o průměru kolem 1 μm, seskupené do párů nebo řetízků, jsou nepohyblivé. Netvoří spóry a neredukují dusičnany na dusitany.[3]

Růst je pomalý, vytváří malé kolonie, které mohou být mukózní na médiích obsahujících sacharosu. Optimální růstová teplota je 20–30 °C.[7] V živných půdách vyžadují přítomnost růstových faktorů, aminokyselin a vitaminy skupiny B.[1]

Rod *Leuconostoc* zkvašuje sacharidy na kyselinu mléčnou, ethanol a CO₂, a proto patří mezi heterofermentativní mléčné bakterie.

V mléčném kvašení, především pak *Leuconostoc lactis* a *Leuconostoc mesenteroides* (viz. Obr.6), jsou důležité pro jejich produkci CO₂ a biacetyl. Biacetyl se uplatňuje jako součást máslařské kultury, neboť dodává máslu příjemné aroma.[2]

Zástupci z rodu *Leuconostoc* se podílejí i na fermentaci zeleniny a plodů, např. kapusty. Jsou též významnou složkou mikroflóry masa a masových produktů.[1]



Obr.6: *Leuconostoc mesenteroides* [29]

2.1.6.6 Rod *Pediococcus*

Grampozitivní, chemoorganotrofní, metabolismus fermentativní, fakultativně anaerobní. Nepohyblivé koky o průměru asi 1 µm. Vyskytují se jednotlivě, v párech nebo tetrádách, zřídka tvoří řetízky. Nikdy netvoří spóry. Kataláza negativní, neredukují dusičnany. Optimální růstová teplota je 25 až 40 °C.[3]

Zástupci rodu *Pediococcus* vyžadují nutričně bohatá média a fermentovatelné cukry – mono- a disacharidy. Glukosa je fermentována za současné produkce kyseliny, ale ne plynu. Hlavním produktem je DL nebo L(+)- laktát.[7]

Vyskytují se hojně na rostlinném materiálu a v potravinách i nápojích, obecně jsou chápány jako nepatogenní, i když ojediněle jsou izolovány z klinického materiálu.[7]

Mezi zástupce rodu *Pediococcus* patří např. *P.damnosus*, *P.pentosaceus*, *P.acidilactici* (viz. Obr.7), z nichž některé jsou velmi obávanými kontaminanty v pivovarnictví, neboť tvoří biacetyl, který nepříznivě ovlivňuje chuť piva.[2]



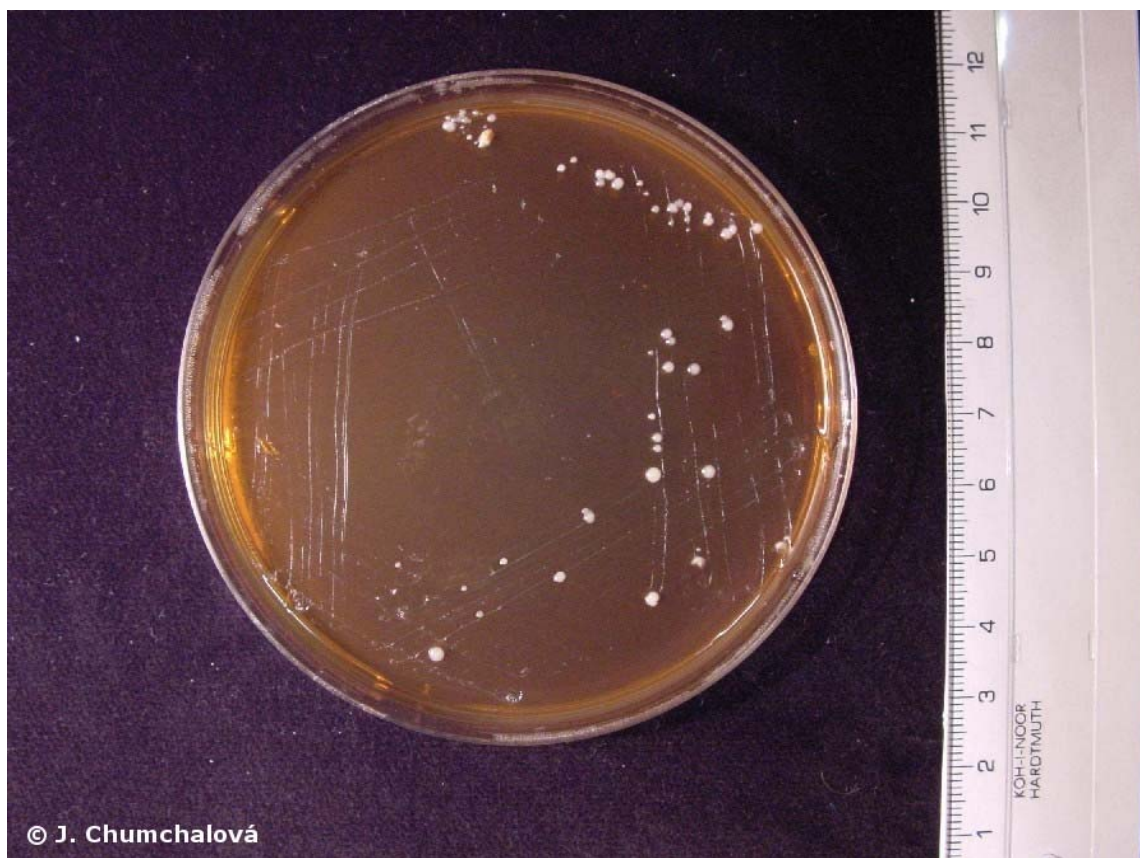
Obr.7: *Pediococcus acidilactici* [29]

2.1.6.7 Rod *Bifidobacterium*

Bifidobakterie (viz. Obr.8) jsou velmi nepravidelné, grampozitivní, anaerobní a kataláza negativní. Buňky jsou nepohyblivé a tvaru tyček, mohou se větvit nebo seskupovat do tvarů písmen V a Y. Bývají též tvaru kyjovitého. Tato variabilita tvarů je do značné míry závislá na podmínkách kultivace.[3] Jejich kolonie jsou na polotuhých médiích hladké, vypouklé s hladkými okraji, smetanově bílé, lesklé, měkké konzistence. Některé druhy tolerují přítomnost O_2 v prostředí, ale jen za přítomnosti CO_2 . [1] Optimální růstová teplota je v rozmezí 37 až 41 °C. Charakteristickým klíčovým enzymem rodu *Bifidobacterium* je fruktózo-6fosfát-fosfoketoláza.[7]

Chemoorganotrofní, aktivně fermentují řadu cukrů za produkce převážně kyseliny octové a mléčné v molárním poměru 3:2, CO_2 , kyselinu máselnou ani propionovou netvoří.[7]

Bifidobakterie jsou velmi prospěšnou součástí střevní flóry (u kojenců představují až 90 %), kde pomáhají udržovat rovnováhu a znesnadňují jiným patogenním mikroorganismům pomnožení ve střevech. Tyto bakterie jsou navíc vybaveny mechanismy, kterými netoxikují škodlivé složky tráveniny. Používají se v probiotických, což jsou živé mikroorganismy přidávané do potravin nebo potravinových doplňků, které příznivě ovlivňují zdraví jejich konzumenta zlepšením rovnováhy střevní mikroflóry.[7]



Obr.8: *Bifidobacterium bifidum* [29]

2.2 Cytologie mléčných bakterií

Cytologie studuje morfologické, fyziologické i biochemické vlastnosti buněk, které jsou dále rozebírány.[9]

2.2.1 Morfologie mléčných bakterií

2.2.1.1 Velikost bakteriálních buněk

Velikost bakteriálních buněk kolísá podle rodů a někdy i podle druhů. Závisí též na stáří kultury a kultivačních podmínkách. Mladé buňky jsou všeobecně větší a silnější, zatímco staré naopak menší. Tloušťka tyčinkovitých bakterií se pohybuje v rozmezí 0,3 až 2 μm , délka bývá 1 až 7 μm . Průměr koků je zhruba 0,5 až 5,5 μm . Z uvedených příkladů je zřejmé, že nelze studovat vlastnosti jednotlivých buněk, avšak velkých souborů či populací.[3]

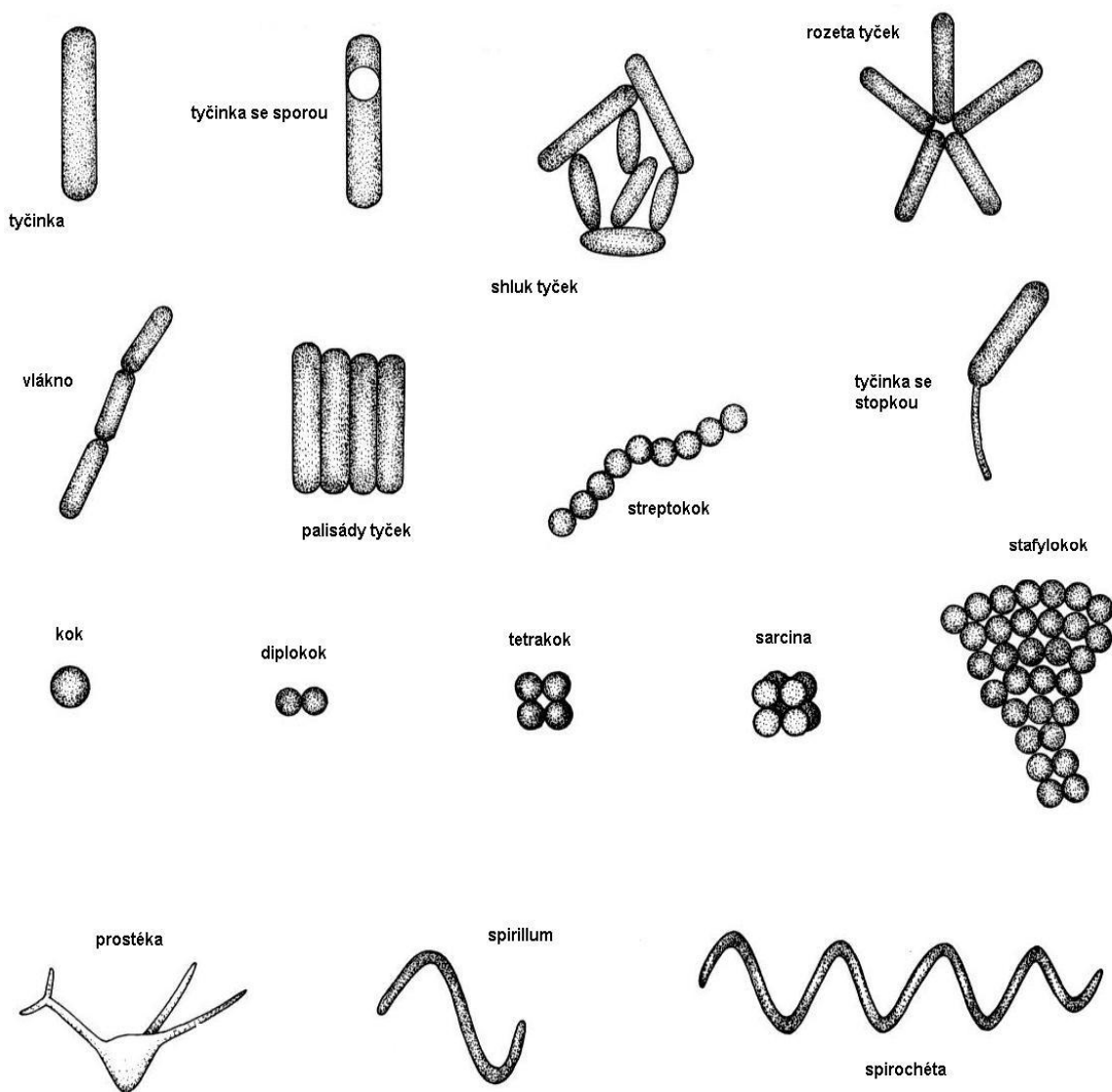
2.2.1.2 Základní tvary bakteriálních buněk

Tvarová rozmanitost bakterií je poměrně malá (viz. Obr.9). Nejčastěji má bakterie základní tvar koule (kokus) nebo válce (tyčinka). Méně často tvoří bakteriální buňka vlákno podobné myceliu.[10] Znalost těchto tvarů je často velmi důležitá pro správnou klasifikaci bakterií do systematických skupin.

- tyčinkovité buňky jsou buď rovné, zakřivené, tvaru pravidelné spirály nebo dlouhé nepravidelné spirály. Různé druhy bakterií se liší poměrem délky buňky k šířce, takže se vyskytují jak druhy tvořící velmi krátké tyčinky podobné spíše kokům, tak i druhy tvořící dlouhé tyčinky připomínající spíše krátká vlákna.

- kulovité vegetativní buňky bakterií se nazývají koky. Pokud se koky rozmnožují dělením pouze v jedné rovině, tvoří řetízky, např. rod *Streptococcus*, při dělení ve dvou na sebe kolmých rovinách vytvářejí většinou tetrády, např. rod *Pediococcus*. Dělením koků v různých rovinách vznikají nepravidelné shluky buněk.[2]

TVARY A TYPY BAKTERIÍ



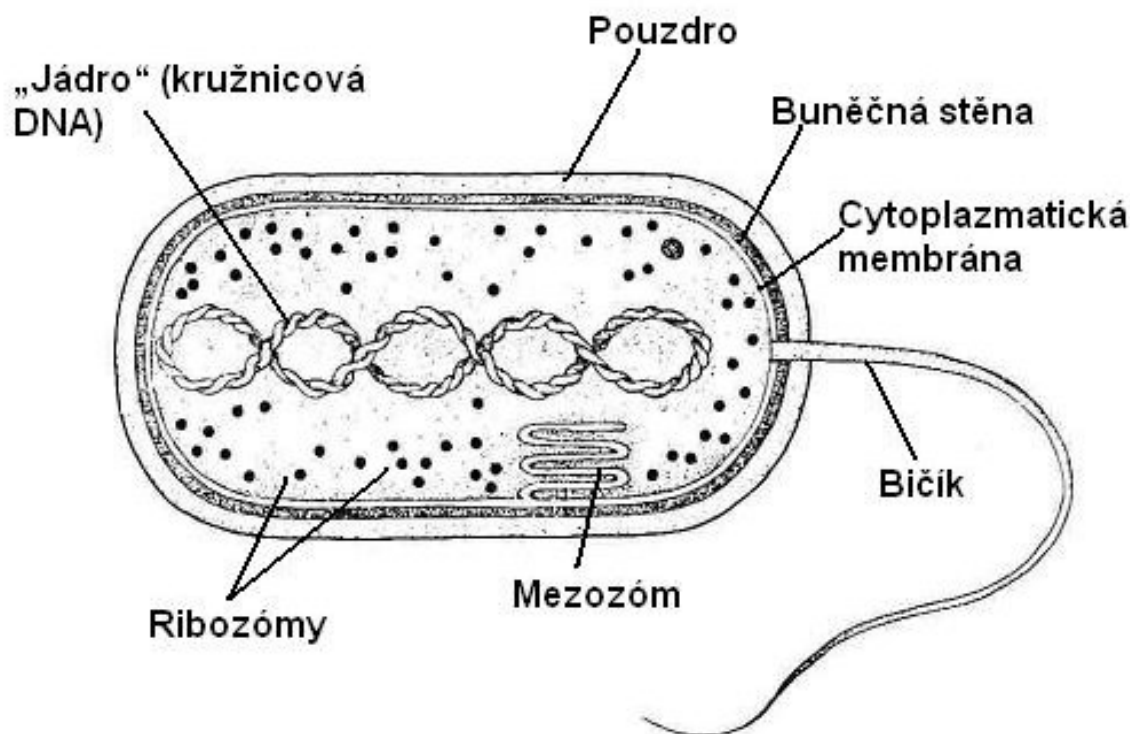
Obr.9: Základní tvary bakteriálních buněk [30]

2.2.2 Buněčná struktura bakterií

Mléčné bakterie se podle povahy vnitřní struktury řadí mezi prokaryotický typ buněk (viz. Obr.10).

Na povrchu bakteriální buňky se vyskytuje buněčná stěna, pod ní cytoplazmatická membrána uzavírající vlastní buněčnou hmotu cytoplazmu. V cytoplasmě se nachází jaderný aparát, také zvaný jaderný ekvivalent (nukleoid) tvořený u bakterií jedinou molekulou

deoxyribonukleové kyseliny. Dále cytoplazma obsahuje ribosomy, inkluze, plazmidy a mesozomy. Na povrchu buněk se mohou vyskytovat orgány pohybu bičíky (flagela).[9]



Obr.10: Buněčná struktura bakterií [30]

2.2.2.1 Buněčná stěna

Každá mikrobiální buňka je od vnějšího prostředí oddělena silnou, pevnou, většinou neohebnou (rigidní) strukturou, která se nazývá buněčná stěna. Buněčná stěna dává mikrobiální buňce tvar a chrání ji před mechanickými vlivy a před účinky osmotického tlaku vnějšího prostředí.[2]

Buněčná stěna grampozitivních bakterií je poměrně silná (asi 20 nm) a tvoří 10 až 20 % sušiny buněk. Vyznačuje se různým obsahem lipidů (0 až 2 %).[3]

Základní složkou a opěrným materiálem buněčné stěny grampozitivních bakterií je poměrně jednoduchý heteropolymer peptidoglykan, který je jako tmelem vyplněn tzv. teichoovou kyselinou.[3] Teichoová kyselina je vázána kovalentní vazbou na muramovou kyselinu a představuje až 50 % sušiny buněčné stěny grampozitivních bakterií.[2]

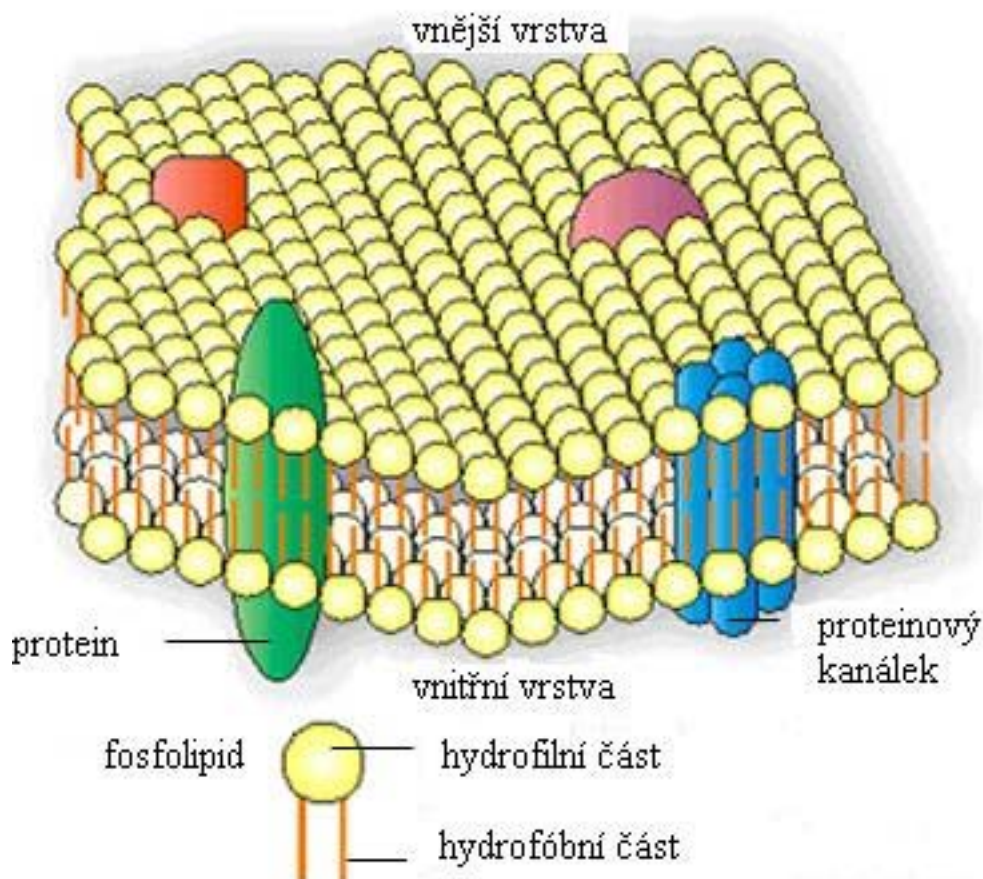
Podjednotkami peptidoglykanu jsou pravidelně se střídající zbytky N-acetylglukosaminu a N-acetylmuramové kyseliny, přičemž N-acetylglukosamin se váže na kyselinu muramovou 1,4-glykosidickou vazbou.[3] Působením enzymu lysozymu se peptidoglykany rozkládají a v izotonickém prostředí tak vzniká protoplast.

Kromě teichoové kyseliny jsou na peptidoglykan vázány ještě polysacharidy složené z glukosy, galaktosy, mannosy a některých dalších monosacharidů.[2]

2.2.2.2 Cytoplazmatická membrána

Cytoplazmatická membrána (viz. Obr.11) je velmi jemná, tenká a flexibilní membrána, která je zřetelná pouze v elektronovém mikroskopu.[2] U grampozitivních bakterií bylo

zjištěno, že cytoplazmatická membrána obsahuje 15 až 40 % fosfolipidů a 40 až 75 % bílkovin.[3]



Obr.11: Cytoplazmatická membrána [31]

Novější obraz struktury cytoplazmatické membrány vychází z představy, že se ve fosfolipidové dvojvrstvě jednotlivé molekuly lipidů pohybují příčně, což se projevuje tak, že tato dvojvrstva je pružná a nepropustná pro vysoce polární molekuly. Do této dvojvrstvy mohou z obou stran vstupovat bílkoviny globulární povahy. Některé bílkoviny dvojvrstvou procházejí, jiné jsou v ní buď částečně, nebo úplně ponořeny a vytvářejí tak mozaikovitou strukturu v tekuté fosfolipidové dvojvrstvě.[3] Složení mastných kyselin ve fosfolipidech závisí na kultivační teplotě, při nízké teplotě fosfolipidy obsahují více nenasycených mastných kyselin.

Z cytoplazmatické membrány vybíhají do cytoplazmy vychlípeniny – mesozomy, které se podílejí na tvorbě přepážky při procesu dělení.[11]

Cytoplazmatická membrána je sídlem dýchacích enzymů, systému oxidační fosforylace, enzymů syntézy a hydrolýzy fosfolipidů a konečné fáze syntézy složek buněčné stěny a pouzdrových obalů. Cytoplazmatická membrána zajišťuje transport látek do buňky a z buňky pomocí bílkovinných přenašečů.[2]

2.2.2.3 Cytoplazma

Cytoplazma zcela vyplňuje vnitřní prostor bakterie, je to viskózní zakalená tekutá hmota.[9]

Chemicky je cytoplazma v podstatě koloidním roztokem globulárních bílkovin, v němž jsou dále rozpuštěny ribonukleové kyseliny, aminokyseliny, nukleotidy, soli organických kyselin, intermediární produkty látkové výměny, vitaminy atd.

Funkce cytoplazmy je zřejmě spojena se základními životními pochody. Nachází se v ní velká část enzymů katalyzujících biosyntetické a rozkladné pochody, především katalyzující syntézu aminokyselin, nukleotidů, polysacharidů, DNA a RNA. V cytoplazmě se nachází rezervní látky.[3]

2.2.2.4 Bakteriální jádro

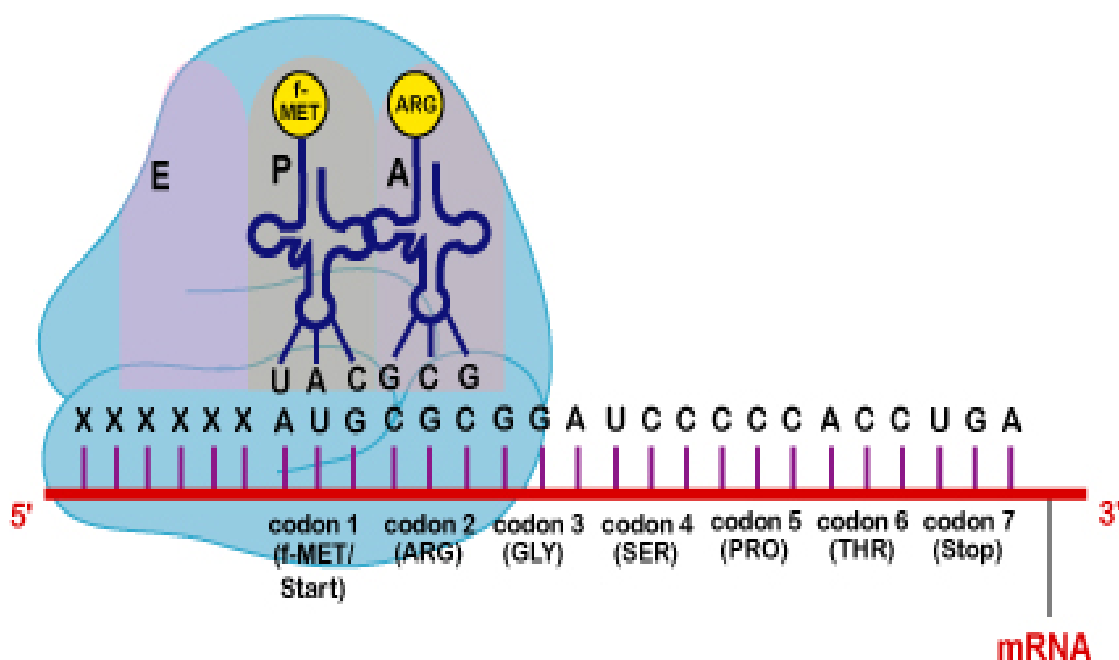
Bakteriální jádro se označuje jako nukleoid, není od cytoplazmy ohraničeno membránou a nedělí se mitoticky. Jádro zaujímá asi 15 % objemu bakterie, ale pouze 3 % sušiny.[11]

Jaderný materiál bakterií tvoří deoxyribonukleová kyselina (DNA), která je doprovázena malým množstvím polyaminů. Molekula DNA u bakterií, podobně jako u ostatních organismů, má tvar dvojité šroubovice, tj. šroubovice tvořené dvěma paralelními řetězci, jež jsou vzájemně spojeny vodíkovými můstky. Molekula DNA tvoří jeden chromozom, který má uzavřenou kruhovitou strukturu a je napojen na vnitřní stranu cytoplazmatické membrány, většinou prostřednictvím mesozomů.[3]

2.2.2.5 Ribosomy

Ribosomy jsou buněčné organely, v nichž se uskutečňuje syntéza bílkovin (polypeptidových řetězců).[3] Množství ribosomů v cytoplazmě bakteriálních buněk kolísá mezi 5 000–50 000 v závislosti na růstové fázi buňky a ostatních podmínkách.[12]

Ribosom bakterie (viz. Obr.12) je složen ze dvou podjednotek – malá podjednotka (sedimentační koeficient 30S) a velká podjednotka (sedimentační koeficient 50S). Každá podjednotka se skládá z ribosomální RNA neboli rRNA a bílkovin. Na ribosomální podjednotce 50S se nachází několik vazebných míst. Je to především aminoacylové místo (A), peptidylové místo (P) a elongační místo (E). Tyto vazebná místa hrají velkou roli v genové expresi, především v translaci.[13]



Obr.12: Ribosomy [32]

2.2.2.6 Plazmidy

Velká řada bakterií obsahuje v buňce kromě chromozomální DNA ještě několik samostatných molekul DNA uzavřené struktury, které se nazývají plazmidy. Obvykle obsahují 5 až 100 genů, nejsou nezbytné pro normální růst bakterií. Jejich jednu skupinu tvoří tzv. konjugativní faktory, které se uplatňují při spájení neboli konjugaci buněk.[2]

2.2.2.7 Inkluze

U bakterií jsou rezervními zdroji energie zejména glykogen, poly- β -hydroxymáselná kyselina a volutin. Rezervní látky jsou osmoticky i iontově neaktivní. Bakterie netvoří rezervní materiál z dusíkatých látek.

- glykogen – nerozpustný polymer glukózy, α -1,4-glukan s četnými rozvětvenými α -1,6-vazbami, glykogenu může být v buňce až 50 % suché hmotnosti. Glykogen je náhodně rozložen v cytoplazmě ve formě tělísek neviditelných ve světelném mikroskopu, ale viditelných v mikroskopu elektronovém.
- poly- β -hydroxymáselná kyselina – tvoří v cytoplazmě kapénky viditelné ve světelném mikroskopu jako světlolomná granula. Může tvořit až 60 % sušiny bakterie.
- volutin – polyfosfát, který se ve formě tělísek někdy hromadí v některých bakteriích. Je zásobárnou molekul fosfátu.[14]

2.2.2.8 Bičíky

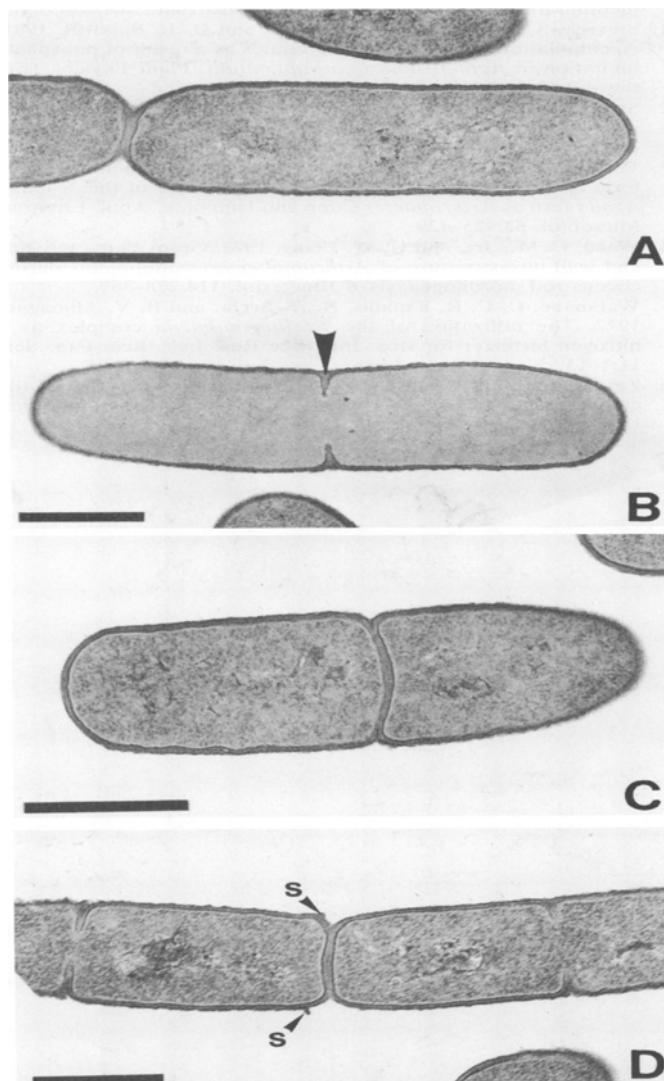
Mnohé bakterie se vyznačují schopností pohybu, který se děje převážně pomocí bičíků.[3] Podle počtu a umístění bičíků rozdělujeme bakterie na monotricha, která mají bičík na jednom pólu buňky, lofotricha, jež mají po svazku bičíků na jednom nebo obou pólech buňky, a peritricha, u nichž je celý povrch buněk pokryt bičíky. Bakterie netvořící bičíky se nazývají atricha.[2]

Bičíky nejsou sice pro život buňky nezbytné, umožňují však aktivní pohyb buňky ke zdroji živin, kyslíku apod. Hnací silou rotačního pohybu bičíků je elektrochemický potenciál vznikající na cytoplazmatické membráně v důsledku metabolismu buňky.[2]

2.2.3 Fyziologické vlastnosti mléčných bakterií

Bakteriální buňka nacházející ve svém okolí vhodné chemické i fyzikální podmínky roste. Přijímá z okolí energii a živiny a podle genetického programu modulovaného aktuálními podmínkami prostředí syntetizuje sebe sama, všechny komponenty svého těla, zvětšuje svoji hmotnost i svůj objem. Po dosažení jisté velikosti se příčně rozdělí na dvě buňky, ty opět rostou, zvětšují se atd.[14] Ke vhodným podmínkám patří zejména fyzikální vlastnosti (přiměřená teplota a tlak), dostatek živin a absence inhibujících látek (např. některých antibiotik).[2]

Většina bakterií se rozmnožuje dělením (viz. Obr.13). Dělení je charakterizováno tím, že ve střední části buňky začne z cytoplazmatické membrány vyrůstat prstencovitá vychlípenina směřující dovnitř buňky, až vytvoří přepážku rozdělující buňku na dvě zhruba stejně velké části. Přepážka se pak pokryje buněčnou stěnou, takže z původní jedné buňky vzniknou buňky dvě, jež se od sebe oddělí nebo zůstanou spojeny v řetízku.[2]



Obr.13: Rozmnožování bakterií [33]

Rozdělení bakteriální buňky předchází vždy replikace chromozomální DNA. U pomalu se rozmnožujících buněk je mezi jednotlivými replikačními cykly DNA časový interval, v němž dochází k syntéze bílkovin a ostatních složek buňky. U těchto buněk se tedy rozlišuje při dělení několik fází:

1. G1-fáze, při níž je v buňce jen jeden genom a kdy probíhá syntéza bílkovin a ostatních buněčných složek.
2. S-fáze, kdy se syntetizuje DNA a část genomu se vyskytuje již dvakrát, přičemž syntéza ostatních složek buňky pokračuje.
3. G2-fáze, při níž jsou v buňce dva genomy a začíná se syntetizovat přepážka oddělující mateřskou a dceřinou buňku

Po ukončení replikace celé molekuly DNA (tedy jednoho cyklu replikace) se obě molekuly DNA oddělí neboli segregují. Na této segregaci se pravděpodobně podílí syntéza cytoplazmatické membrány buňky, neboť chromozom je svým iniciačním bodem na ni napojen.[2]

Celková doba od vzniku dceřiné buňky k jejímu dalšímu rozdělení se nazývá generační doba, tj. doba, za níž dojde ke zdvojnásobení počtu buněk a většinou zhruba také ke zdvojnásobení buněčné hmoty.[2]

2.3 Metabolismus mléčných bakterií

Bakteriální buňka, stejně jako každý jiný živý organizmus, je otevřený systém vyměňující s okolím hmotu, energii a informaci. Tato výměna má však jistou tendenci, jistý směr, a proto je výstižnější ji nazývat tokem, např.: energie je přijímána jako volná energie (světelná či chemická) a vylučována jako teplo, hmota je přijímána ve formě jednoduchých živin a přebudována ve složité makromolekuly organizovaných struktur buňky a v ještě jednodušší zplodiny metabolismu.[14] Hmota, energie a informace jsou živým systémem na vstupech přijímány, uvnitř systému transformovány a na výstupech systému vyslány do prostředí. Tento tok hmoty, energie a informace živým systémem je možno nazvat metabolismem.[15]

Metabolismus je děj zahrnující procesy látkové přeměny, které slouží k získání základního stavebního materiálu a energie pro syntézu buněčných složek i pro ostatní životní úkony bakteriálních buněk.[13]

2.3.1 Fermentace

Schopnost bakterií fermentovat ten či onen cukr či jinou látku je v bakteriologii důležitým taxonomickým a identifikačním znakem, stejně tak jako produkce či neprodukce toho či onoho konečného produktu fermentace z daného substrátu.[13]

Fermentace byly původně označovány jen jako anaerobní rozkladné procesy (pravé kvašení), později však i jako aerobní neúplné rozklady (nepravé kvašení). Fermentaci mohou uskutečňovat buňky všech organismů, průmyslově jsou využívány fermentace realizované mikroorganismy. Každý druh fermentujících mikroorganismů má k dispozici genetickou informaci pro výrobu specifického setu fermentačních produktů a je neschopen vyrábět jiné.[16]

Jako kvašení neboli fermentace jsou chápány procesy anaerobní dehydrogenace, v jejichž průběhu je zkvašovaný organický substrát zpravidla po předchozí aktivaci rozštěpen na jednoduché meziprodukty, které pak vstupují do vzájemných, oxidačně redukčních reakcí. Substrát se aktivuje fosforylací za účasti ATP a příslušných enzymů. Přenos vodíku při oxidačně redukčních reakcích obstarávají NAD-dehydrogenázy. Konečným akceptorem vodíku a elektronů je organická látka.[3]

Nejčastějšími výchozími substráty pro fermentaci jsou sacharidy a jejich deriváty nebo meziprodukty jejich metabolismu:

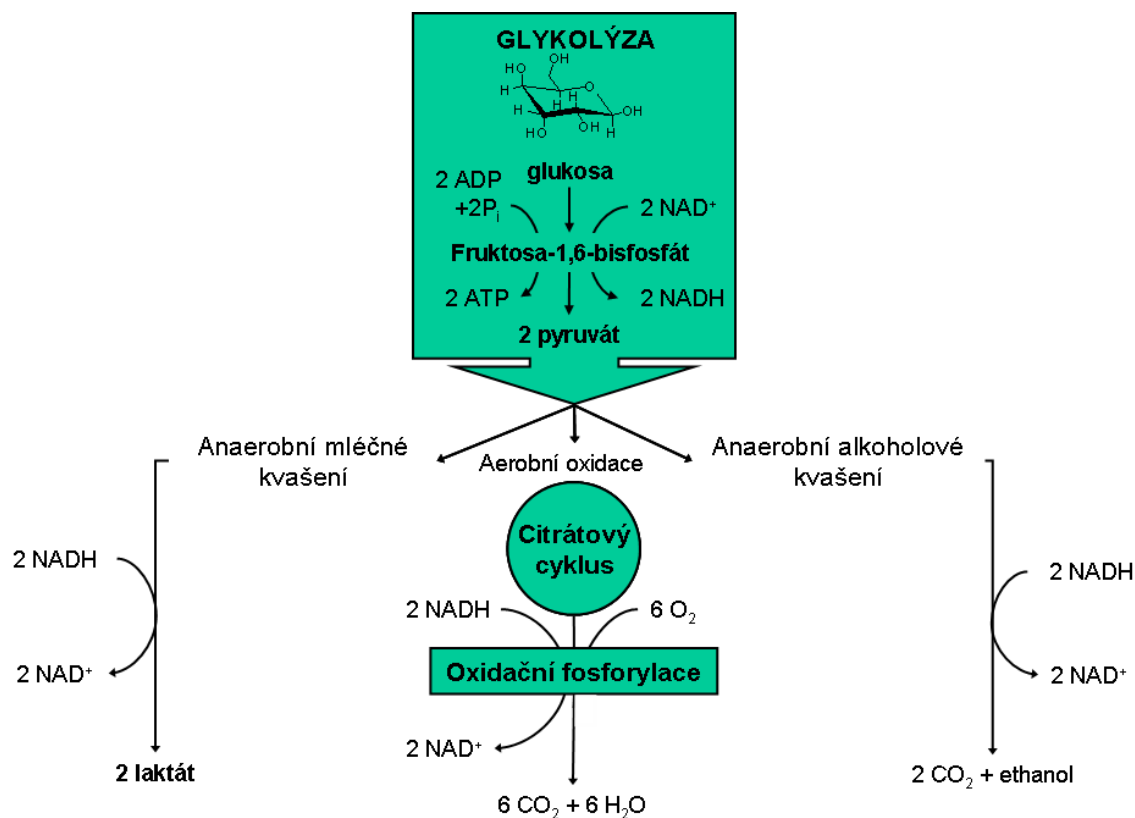
- fermentovány mohou být polysacharidy (škrob, glykogen, celulóza, chitin), disacharidy (sacharosa, laktosa, maltosa) i monosacharidy (hexosy glukosa, fruktosa, galaktosa i pentosy arabinosa, xylulosa, ribosa).
- z derivátů sacharidů jsou použitelné cukerné kyseliny glukonová a galakturonová nebo polyalkoholy (glycerol, mannitol).

Poly- a disacharidy se nejprve štěpí na monosacharidy, které se přeměňují na glukosu, z níž pak vlastní odbourávání vychází. Při fermentaci sacharidů jde nejčastěji o modifikace nebo prodloužení glykolýzy, v omezeném počtu případů též o využití reakcí pentosového cyklu nebo Entnerovy-Doudoroffovy cesty.[16]

Produkty fermentací jsou organické kyseliny snižující pH prostředí (kyselina mléčná, octová, propionová, máselná, jantarová aj.) a alkoholy či látky příbuzné (ethanol, butanol, izopropanol, aceton, acetoin aj.) Častým produktem fermentací jsou plyny, jmenovitě CO₂ a H₂. [13]

2.3.2 Glykolýza

Pod názvem glykolýza rozumíme sled reakcí, jimiž se přeměňuje glukosa na pyruvát za současné produkce ATP. Glykolytické reakce (viz. *Obr. 14*) od glukosy po pyruvát jsou velmi podobné u všech organismů a ve všech druzích buněk. U aerobních organismů glykolýza předchází citrátovému cyklu a dýchacímu řetězci, kde se získává většina energie obsažená v glukose. U těchto organismů pyruvát vstupuje do mitochondrií, kde je úplně oxidován na CO_2 a H_2O . Za anaerobních podmínek se pyruvát přeměňuje buď na laktát nebo ethanol.[17]



Obr.14: Glykolýza [34]

2.3.3 Mléčné kvašení

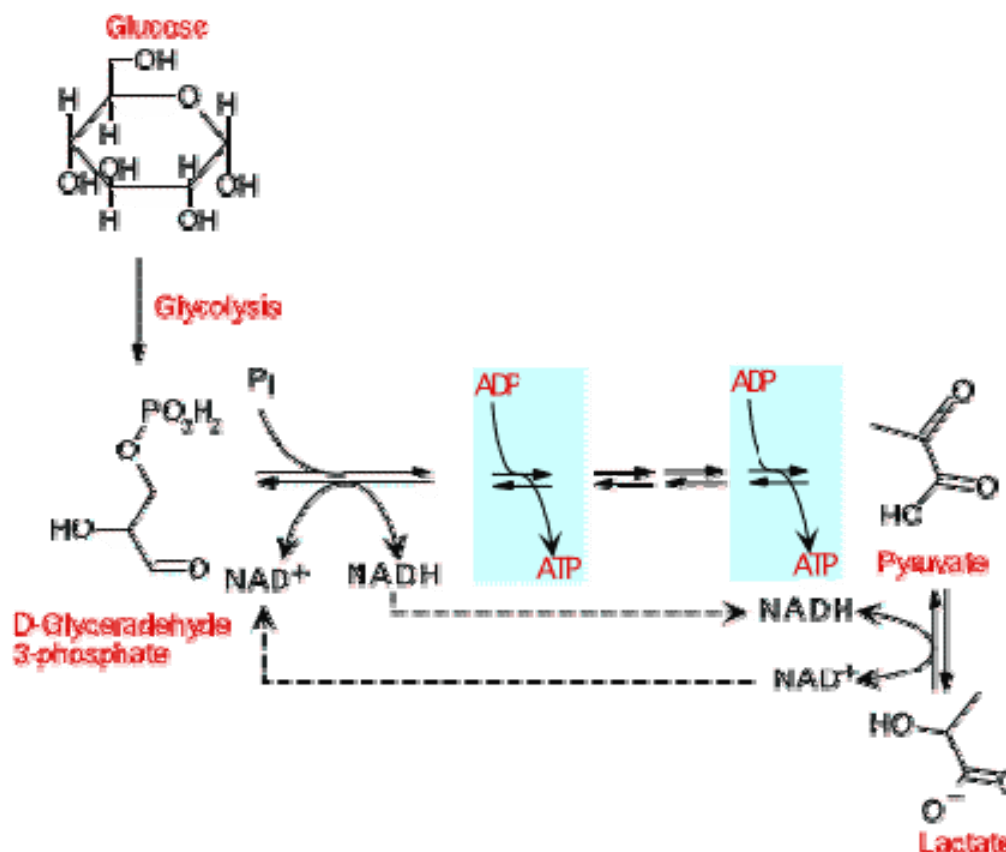
Přeměna sacharidů na kyselinu mléčnou pomocí bakterií mléčného kvašení je jednou z nejdůležitějších fermentačních metod v potravinářské mikrobiologii.[18] Podle toho, jaké konečné produkty při kvašení vznikají, rozeznáváme obvykle dva typy kvašení:

1. Homofermentativní mléčné kvašení - jako hlavní a jediný produkt vzniká kyselina mléčná
2. Heterofermentativní mléčné kvašení – vedle kyseliny mléčné vytvářeny ještě další látky, např. kyselina octová, ethanol, vodík a CO_2 .[16]

2.3.3.1 Homofermentace

Při tomto kvašení vzniká jako konečný produkt pouze kyselina mléčná (viz. *Obr. 15*). Jako substrát se zde uplatňují hlavně hexosy, jejichž fermentace probíhá po dráze známé jako glykolýza.[3]

Sled reakcí této dráhy je až do vzniku pyruvátu stejný jako při ethanolovém kvašení. Konečnou fází tohoto procesu představuje přeměna pyruvátu na kyselinu mléčnou. Reakce je katalyzována NAD-laktátdehydrogenázou.[3]



Obr.15: Homofermentativní mléčné kvašení [35]

Homofermentativní fermentaci se však v praxi nikdy nedosáhne 100% konverze, jelikož se kromě biomasy může tvořit různé množství vedlejších produktů jako je ethanol, octová kyselina, mravenčí kyselina, CO_2 a další. Fermentace s výtěžkem vyšším než 80 % teoretické hodnoty jsou považovány za homofermentativní.[6]

Samovolné mléčné kvašení se uplatňuje při konzervaci zelí, okurek a zelené píce (tzv. silážování), neboť zabraňuje rozvoji hnilobných bakterií. Na použití mléčného kvašení je založeno také sýrařství a výroba kvašených mléčných nápojů.[2]

Původci tohoto kvašení: *Lactobacillus bulgaricus*, *L.acidophilus*, *L.plantarum*, *L.casei*, *L.delbrueckii*, *L.leichmannii*, *Streptococcus lactis* aj.[3, 18]

2.3.3.2 Heterofermentace

Heterofermentativní mléčné kvašení je charakterizováno tím, že vedle kyseliny mléčné při něm vznikají ještě další konečné produkty (viz. Obr.16). Nejčastěji to bývá kyselina octová, ethanol, vodík a CO_2 [14]. U většiny původců tohoto kvašení chybějí základní enzymy glykolytické dráhy (aldoláza a triozofosfátizomeráza). Štěpení hexos, např. glukosy, probíhá proto u nich po tzv. fosfoketolázové dráze.[3]

3. vytváří chuťové aromatické látky vznikající při látkové výměně v potravinách, které přispívají k dosažení požadovaných vlastností
4. tvorba enzymů, které se uplatňují při katalytických nebo hydrolytických procesech[4]

2.4.1 Mléko

Hlavními přirozenými složkami mléka jsou mléčné bílkoviny, mléčný tuk, mléčný cukr (laktosa), minerální látky, vitaminy a enzymy.

Mléko (viz. Obr.17) je vzhledem ke svému obsahu živin prostředím, v němž se různé mikroorganismy velmi dobře rozvíjejí. S mikroorganismy v mléku souvisí i jakost a trvanlivost mléčných výrobků z něho vyrobených. Ovšem naproti tomu některé druhy mléčných výrobků by nebylo možno bez činnosti ušlechtilých mikroorganismů vůbec vyrobit. Proto technologie mlékárenské výroby záleží na dvou činitelích:

- zničení patogenních a nežádoucích mikroorganismů, které se v syrovém mléce nacházejí
- využití ušlechtilých mikroorganismů u mléčných výrobků, konkrétně u kaseinu a sýrů[19]

Proces kysání mléka může probíhat několik hodin, ale i několik dnů – podle převažujícího druhu mikroorganismů a podmínek. Proces kysání mléka dosahuje svého maxima v době, kdy bakterie mléčného kvašení tvoří takové množství (koncentraci) mléčné kyseliny, že jsou jí inhibovány její vlastní producenti ve svém dalším rozvoji. Toto období nastává při minimálním obsahu 1% mléčné kyseliny (pH cca 4,7), je ovšem různé podle druhů přítomných bakterií mléčného kvašení.[19]

Fermentované mléčné výrobky s využitím mezofilních bakterií mléčného kvašení se obvykle dělí na kysaná mléka (mají kyselý, občerstvující charakter), kysané smetany (jemné, mírně kyselé chuti a viskózní konzistence) a kysané podmásli (vedlejší produkt při výrobě másla ze sladké nebo fermentované smetany).[20]

Do skupiny fermentovaných mlék s termofilními bakteriemi se řadí acidofilní mléko (vyráběno pomocí kultury *Lactobacillus acidophilus*) a ostatní fermentované mléčné výrobky s probiotickými bakteriemi mléčného kvašení, které často vyžadují speciální technologické postupy výroby. Probiotika jsou potraviny nebo výživové doplňky, které obsahují živé LAB s původním stanovištěm v gastro-intestinálním traktu působící pozitivně na organismus lidí a zvířat. Bakterie používané do těchto produktů náleží nejčastěji mezi rody *Lactobacillus* a *Bifidobacterium*.

Typickým představitelem skupiny fermentovaných výrobků s bakteriemi a kvasinkami je nápoj asijského původu kefir (má příjemnou mléčnou chuť a je svěží díky obsahu oxidu uhličitého. Je mírně obohaceno vitaminem B12 a kyselinou listovou. Do této skupiny řadíme také kumus.[20]



Obr.17: Mléko a mléčné výrobky [36]

2.4.2 Jogurty

Jogurty se liší od sýrů tím, že není využíváno sýření a k zahušťování dochází překyselováním pomocí bakterií mléčného kvašení. Jeho popularita vyplývá z chuti a všestrannosti. Jogurt se může vyrábět z mléka, odstředěného mléka nebo z obohaceného mléka obvykle od krav, ale někdy i od jiných zvířat, jako jsou kozy nebo ovce.[4]

Celosvětově patří k nejrozšířenějším fermentovaným výrobkům. Jejich sortiment z hlediska konzistence i použitých přídatných látek je značně široký. Z hlediska použité mikroflóry se ve většině zemí definuje jogurt jako výrobek obsahující živé bakterie *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus*. Při fermentaci je důležité udržet jejich správný poměr a vytvořit podmínky pro vznik požadovaného množství metabolitů.[20]

Jogurtové výrobky (viz. *Obr.18*) se dělí na přírodní jogurty (Natural Yoghurts), které se vyrábí již jen v malé míře a na ochucené jogurty (Flavoured Yoghurt), které mohou obsahovat různé nemléčné složky (ovoce, koření, čokoláda), aroma, barviva a přísady zlepšující konzistenci.[20]



Obr.18: Ochucené jogurty [37]

2.4.3 Sýry a tvaroh

Sýr je bílkovinný koncentrát vyrobený okyselením nebo enzymovým srážením mléka za účasti mikroorganismů. Vzniká odstraněním vody ze sraženiny a podléhá chemickým a fyzikálním změnám způsobených mikroflórou. Přitom dochází k velkým chuťovým změnám a k prodloužení trvanlivosti ve srovnání s čerstvým mlékem, což je způsobeno fermentací laktosy především na kyselinu mléčnou, snížení vodní aktivity a pH, přispívá též nízký redox potenciál a přídavek soli.[21] Výsledek fermentačního procesu je podmíněný vnějšími a vnitřními faktory působícími při fermentaci mléka, syroviny a při zrání sýrů. Kombinací těchto faktorů se ze stejné výchozí suroviny vyrábí řada sýrů s odlišnými vlastnostmi: vůní, chutí, konzistencí, velikostí, tvarem, vzhledem, sušinou, tukem v sušině a trvanlivostí.[1]

Podle způsobu srážení mléka a dalšího technologického postupu rozdělujeme sýry do tří hlavních skupin:

1. sýry sladké (sýřené)
2. sýry kyselé (tvarohové)
3. sýry tavené

Při výrobě sladkých sýrů se sladké mléko sráží enzymaticky tzv. syřidlem a vzniklá sraženina se dále zpracovává. U všech druhů sladkých sýrů neprobíhá jen čisté enzymatické srážení, v různém stupni spolupůsobí i kyselina mléčná, která ovlivňuje charakter sraženiny. Při výrobě kyselých sýrů (tvarůžky, syrečky) je výchozí látkou tvaroh získaný mléčným kvašením z mléka. Do této skupiny patří i některé čerstvé sýry tvarohové, které se připravují z měkkého tvarohu vyrobeného za malého přídavku syřidla. Kyselé a sladké sýry jsou tzv.

sýry přírodní. Tavené sýry se vyrábějí z přírodních sýrů a různých přísad za použití vyšších teplot a tavicích solí (emulgačních prostředků).[22]

Tvaroh je sraženina z plnotučného, respektive částečně či úplně odstředěného mléka, částečně zbavená syrovátky, která vznikla působením kyseliny mléčné, někdy s přídavkem malého množství syřidla.[23]

2.4.4 Fermentovaná zelenina

Fermentovaná zelenina se vyrábí spontánní fermentací, které podléhají snadno využitelné sacharidy, zatímco celulóza (balastní látky) a bílkoviny zůstávají nezměněné. Na fermentaci celé řady rostlinných produktů, například kyselé zelí a okurky, jsou používány bakterie mléčného kvašení. Na živých rostlinách dominují zástupci rodu *Leuconostoc* oproti méně zastoupeným bakteriím rodu *Lactobacillus*. [1] Substrátem pro mléčné kvašení jsou cukry (glukosa, fruktosa), malát, citrát, manitol.[24] Mléčná fermentace prodlužuje trvanlivost produktu, příznivě mění jeho senzorické vlastnosti, texturu i stravitelnost.[1] Rostlinné produkty konzervované mléčným kvašením jsou typické pro oblast Balkánu, kde se tímto způsobem zpracovává i ovoce, naopak např. v zemích západní Evropy jsou takto zpracované výrobky poměrně neznámé.[25]

V našich podmínkách jsou nejznámějšími výrobky zpracovávanými tímto způsobem mléčné kysané zelí a okurky. Technologie je tradiční a spočívá v správném vedení kvasného procesu v nakrouhaném, prosoleném a upěchovaném zelí nebo okurkách zalitých slaným nálevem tak, aby se ve zpracovávaném materiálu co nejrychleji vytvořilo dostatečné množství kyseliny mléčné (její koncentrace v konečném produktu by měla být cca 1,5 %, pH 3,4–3,5).

Mléčná fermentace prodlužuje trvanlivost produktu, příznivě mění jeho senzorické vlastnosti, texturu i stravitelnost.[1] Stabilita konečného produktu je pak závislá na uchování kyseliny mléčné, což je možné po poměrně dlouhou dobu při zachování anaerobních podmínek a udržování nízké teploty (0–10 °C).[25]

2.4.5 Fermentované maso, uzeniny, salámy

Připravují se ze syrového masa, které podléhá fermentačnímu procesu. Součástí startovací kultury jsou homofermentativní mléčné bakterie, aby netvořili plyn a jiné nežádoucí metabolity. Jedná se především o rody *Lactobacillus* a *Pediococcus*. [1] Vzhledem k tomu, že se ve středoevropských podmínkách používají teploty fermentace maximálně do 25 °C, získávají dominanci v díle zástupci rodu *Lactobacillus*. Druhy rodu *Pediococcus* s teplotními optimy kolem 30–40 °C se uplatňují především v masném průmyslu USA.[26]

Při heterofermentativním kvašení vzniká kyselina octová, která udílí hotovým výrobkům štiplavé aroma a štiplavou, pálivou chuť. Oxid uhličitý vyvolává pórovitost až tvorbu trhlin patrných na řezu výrobku, v extrémních případech může způsobit i prasknutí výrobku.[26]

Kvalitní fermentované salámy (viz. Obr.18) zrají delší dobu, takže se vytvoří množství senzoricky aktivních látek. Dlouhodobě zrající salámy bývají také značně vysušené, a proto trvanlivé. Naopak méně kvalitní (levné) výrobky zrají jen krátkou dobu, jsou málo vysušené a při nevhodném uložení (vyšší relativní vlhkost) brzy porůstají plísní. Mezi nejvyšší kvalitnější masné výrobky patří dlouhodobě zrající sýrové šunky (parmská šunka zraje více než 1 rok), kde se vytvoří lahodné aroma a chuť dlouhodobou řízenou fermentací.[25]

Fermentací se zajišťuje delší doba skladovatelnosti u výrobků, které nejsou tepelně opracovány. Ke zvýšení údržnosti pak přispívá i snížení aktivity vody (přídavkem soli a usušením) a konzervační složky z kouře.[25] Bakteriemi produkována kyselina mléčná

působí mikrobicidně na růst patogenních bakterií (především salmonely a na *Staphylococcus aureus*). Kyselina mléčná a nízké hodnoty pH prodlužují trvanlivost těchto uzenářských výrobků. Štěpné produkty a metabolity vzniklé během fermentačního procesu LAB mají pozitivní vliv na charakteristickou chuť a vybarvení uzralých uzenin. Mléčné bakterie však kromě pozitivních účinků mohou působit i vady produktu. Nežádoucí je jejich příliš velké pomnožení, které se projeví kyselou chutí a vůní, vizuální projev je zezelenání produktu.[1]



Obr.18 Fermentované salámy [38]

2.4.6 Kvašení alkoholových nápojů

Mléčné bakterie jsou velmi důležité pro tzv. biologické odbourávání kyselin, označované také jako malolaktické kvašení. Přeměnou kyseliny jablečné na kyselinu mléčnou se snižuje kyselost vína a zjemňuje se jeho chuť. Přílišným odbouráním kyselin ztrácí víno svěžest, zatímco neodkyselená vína jsou plnější a výraznější. Rozmnožováním nežádoucích MO vznikají nemoci vína, které se však v současné době díky moderním technologiím vyskytují jen zřídka. Základními podmínkami pro rozvoj mléčných bakterií a zdárný průběh jejich činnosti je teplota kolem 14–18 °C, nízký obsah volné i vázané kyseliny siřičité a dostatečné množství dusíkatých látek potřebných pro výživu mléčných bakterií.[27]

Při výrobě piva jsou bakterie mléčného kvašení (především rody *Lactobacillus* a *Pediococcus*) nežádoucí, neboť jsou jedni z obávaných kontaminantů v pivovarství. Způsobují svým růstem a schopností produkce biacetylu (složka zodpovědná za „máselnou“ příchut') poruchy zákalu a nepříznivě ovlivňují chuť a vůni piva.[24]

2.4.7 Kvašení pekařského těsta

Chléb a pečivo se vyrábí z obilných mouk s přídavkem vody, kuchyňské soli, kypřících a jiných přípravků. Nakypření těsta probíhá biologickou cestou. Těsta z žitné mouky nekynou spontánně. Při výrobě žitného či pšeničnožitného chleba s podílem žita větším než 20 % se

vyžaduje kvašení. Použitím bakterií mléčného kvašení do pekárenských startovacích kultur vzniká dobré kynuté těsto vhodné na pečení. Tyto startovací kultury obsahují homofermentativní i heterofermentativní LAB z rodu *Lactobacillus*. Fermentační produkty obou skupin se zúčastňují na tvorbě chuti a aroma kynutého a kvašeného těsta. Podle kvantitativních poměrů vznikajících kyselin, dalších metabolitů a na jejich vzájemných reakčních produktech se vytváří senzorické vlastnosti chleba. Nízké hodnoty pH těsta způsobené v důsledku vzniku organických kyselin (kyselina mléčná a octová) při fermentaci mají velký vliv na jeho kypření, strukturu, elasticitu a pórovitost, zároveň zabraňují růstu a množení jak bakteriím, např. z rodu *Bacillus*, tak i plísním.[1]

3 ZÁVĚR

V rámci této bakalářské práce byly prostudovány bakterie mléčného kvašení. Byla provedena rešerše, která shrnuje současné poznatky o těchto bakteriích.

Bakterie mléčného kvašení se rozdělují do několika rodů: *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* a *Bifidobacterium*. Využití těchto rodů se uplatňuje např. při produkci antibiotika nisin (rod *Lactococcus*), při výrobě másla a smetany (rod *Streptococcus*), při stanovení fekálního znečištění (rod *Enterococcus*) a v mnoha dalších odvětvích lidské činnosti.

Byla popsána morfologie bakterií mléčného kvašení, stavba bakteriálních buněk a způsob jejich pohybu, jakožto prokaryotických organismů.

Dále byl rozebrán metabolismus bakterií mléčného kvašení, který obecně spočívá v příjmu sacharidů nebo jejich derivátů, které podléhají procesu zvanému glykolýza až na tvorbu pyruvátu. Z pyruvátu anaerobní cestou vznikají typické produkty fermentace. Dle vznikajících produktů fermentace se dělí mléčné bakterie na homofermentativní a na heterofermentativní. U homofermentativních mléčných bakterií nám jako jediný a hlavní produkt vzniká kyselina mléčná, zatímco u heterofermentativních bakterií jsou vedle kyseliny mléčné vytvářeny ještě další látky.

Bakterie mléčného kvašení se přirozeně vyskytují v lidském těle. Hojně se těchto bakterií využívá v potravinářském průmyslu, kde se využívá jejich schopnosti snižovat obsah sacharidů, udržovat nízké pH a také ovlivňovat chuť a trvanlivost výrobku. Tyto kultury nejsou však využívány jen v mlékárenském průmyslu při výrobě sýrů, jogurtů nebo mléka, ale také při výrobě fermentované zeleniny, uzenin, pekařského těsta a alkoholových nápojů.

4 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

Knižní zdroje:

- [1] GÖRNER, F., VALÍK, L. Aplikovaná mikrobiológia požívatín. 1. vyd. Bratislava : Malé centrum, TYPOSET, 2004. 528 s. ISBN 80-967064-9-7.
- [2] ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. 3. upr. vyd. Praha : Academia nakladatelství Akademie věd České republiky, 2002. 363 s. ISBN 80-200-1024-6.
- [3] ROSYPAL, S. *Obecná bakteriologie*. 1. vyd. Praha : Státní pedagogické nakladatelství, 1981. 749 s.
- [4] ADAMS, M.R., MOSS, M.O. *Food Microbiology*. 2nd edition. Cambridge : The Royal Society of Chemistry, 2000. 479 s. ISBN 0-85404-611-9.
- [5] CHAMPOMIER-VERGÈS, M.-CH., MAGUIN, E., MISTOU, M.-Y. Lactic acid bacteria and proteomics: current knowledge and perspectives. *Journal of Chromatography B*, 2002, no. 771, s. 329-342.
- [6] MASÁK, J., PELECHOVÁ, J., PLACHÝ, J. *Speciální mikrobiální technologie*. 1. vyd. Praha : Vysoká škola chemicko-technologická, 1992. 301 s. ISBN 80-7080-142-5.
- [7] SEDLÁČEK, I. *Taxonomie prokaryot*. 1. vyd. Brno : Masarykova univerzita, 2006. 270 s. ISBN 80-210-4207-9.
- [8] FOULQUIÉ MORENO, M.R., SARANTINOPOULOS, P., TSAKALIDOU, E. The role and application of enterococci in food and health. *Journal of Chromatography B*, 2006, no. 106, s. 1-24.
- [9] KLABAN, V. *Ilustrovaný mikrobiologický slovník*. 1. vyd. Praha : Galén, 2005. 654 s. ISBN 80-7262-341-9.
- [10] BEDNÁŘ, M. *Lékařská mikrobiologie : bakteriologie, virologie, parazitologie*. 1. vyd. Praha : Marvil, 1996. 558 s.
- [11] ROSYPAL, S. *Nový přehled biologie*. 1. vyd. Praha : Scientia, 2003. 798 s. ISBN 80-7183-268-5.
- [12] HOĐÁK, K. *Fyziologie a biochemie bakterií*. 2. přeprac. vyd. Brno : UJEP Brno, 1979. 315 s.
- [13] VODRÁŽKA, Z., ŽĎÁRSKÝ, J., DEMNEROVÁ, K. *Biochemie a mikrobiologie*. 1. vyd. Praha : SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1985. 294 s. ISBN 05-090-85.
- [14] KAPRÁLEK, F. *Fyziologie bakterií*. 1. vyd. Praha : Státní pedagogické nakladatelství, 1986. 604 s. ISBN 14-600-86.
- [15] HORÁČEK, J. *Základy lékařské mikrobiologie*. Praha : KAROLINUM, 2000. 309 s.
- [16] VODRÁŽKA, Z. *Biochemie*. 2. opravené vyd. Praha : Academica, 2002. 191 s. ISBN 80-200-0600-1.
- [17] SOFROVÁ, D., TICHÁ, M., BARTLOVÁ, M. *Biochemie : základní kurz*. 3. vyd. Praha : KAROLINUM, 2005. 241 s. ISBN 80-7184-936-7.
- [18] VESELÁ, M., DRDÁK, M. *Praktikum z obecné mikrobiologie*. 2. přeprac. vyd. Brno : Vysoké učení technické, 1999. 88 s. ISBN 80-214_1305-0.
- [19] TEPLÝ, M. *Výroba sýrů, kaseinů a kaseinátů*. Praha : SNTL-Nakladatelství technické literatury, 1985. 185 s.
- [20] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin II*. 2. upr. vyd. Tábor : OSSIS, 2002. 303 s. ISBN 80-86659-01-1.

- [21] ODSTRČIL, J., ODSTRČILOVÁ, M. *Chemie potravin*. 1. vyd. Brno : Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, 2006. 164 s. ISBN 80-7013-435-6.
- [22] ČERNÁ, M. *Nutriční hodnota mléka a mléčných výrobků*. Praha : Středisko technických informací potravinářského průmyslu, 1979. 142 s.
- [23] DRDÁK, M., STUDNICKÝ, J., MÓROVÁ, E., KAROVIČOVÁ, J. *Základy potravinářských technologií spracovania rastlinných a živočíšnych surovín, cereálne a fermentačné technológie uchovávanie, hygiena a ekológia potravín*. 1. vyd. Bratislava : Malé centrum, 1996. 511 s. ISBN 80-967064-1-1.
- [24] LIU, S.-Q. Practical implications of lactate and pyruvate metabolism by lactic acid bacteria in food and beverage fermentations. *International Journal of Food Microbiology*. 2003, no. 83, s. 115-131.
- [25] KADLEC, P. *Technologie potravin I*. 1. vyd. Praha : Vysoká škola chemicko-technologická, 2002. 300 s. ISBN 80-7080-509-9.
- [26] KAMENÍK, J. *Startovací kultury v masném průmyslu*. Praha : ÚZPI, 1994. 51 s. ISBN 80-85120-46-1.
- [27] KUTTELVAŠER, Z. *Abeceda vína*. 2. vyd. Praha : Radix, 2003. 280 s. ISBN 80-86031-43-8.

Internetové zdroje:

- [28] ŠVEC, P., ŠEVČÍKOVÁ, A., VANCANNEYT, M. *Identifikace mléčných bakterií izolovaných z hemokultur* [online]. 2005 [cit. 2009-05-13]. Dostupný z WWW: <<http://sci.muni.cz/ccm/download/public/CSSM%20LAB%20z%20hemokultur%202005.pdf>>.
- [29] CHUMCHALOVÁ, J. *Miniatlas mikroorganismů* [online]. 2006 [cit. 2009-05-08]. Dostupný z WWW: <<http://www.sci.muni.cz/mikrob/Miniatlas/mikr.htm>>.
- [30] ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, J. *Encyklopedie hydrobiologie* [online]. 2007 [cit. 2009-05-13]. Dostupný z WWW: <http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-006/ebook.html?p=P035>.
- [31] KAISER, G. *BIOL 230 MICROBIOLOGY* [online]. 2007 , Updated: Sept., 2007 [cit. 2009-05-13]. Dostupný z WWW: <<http://student.ccbcmd.edu/courses/bio141/lecguide/unit1/prostruct/u1fig3.html>>.
- [32] KAISER, G. *BIOL 230 MICROBIOLOGY* [online]. 2007 , Updated: July, 2007 [cit. 2009-05-13]. Dostupný z WWW: <<http://student.ccbcmd.edu/courses/bio141/lecguide/unit1/prostruct/u1fig5.html>>.
- [33] SEDLÁŘOVÁ, M. MEDKOVÁ, J. *Růst a množení bakterií* [s.l.], 2007. 19 s. PřF UP. [cit. 2009-05-13]. Dostupný z WWW: <http://botany.upol.cz/prezentace/sedlarova/MB_vyziva_t.pdf>.
- [34] KOSOVÁ, N. *Metabolismus sacharidů* [online]. 2008 [cit. 2009-05-13]. Dostupný z WWW: <www.gymnazium.ji.cz/docs/sipvz/chemie/vyssi/prezentace/12metabo.ppt>.
- [35] PAUSTIAN, T. *Metabolism - Fermentation* [online]. University of Wisconsin-Madison, 2000 , Updated: July 5, 2000 [cit. 2009-05-13]. Dostupný z WWW: <<http://dwb.unl.edu/Teacher/NSF/C11/C11Links/www.bact.wisc.edu/microtextbook/metabolism/Fermentation.html>>.
- [36] *Zemědělci budou rozdávat české mléčné výrobky před supermarkety* [online]. Finanční noviny. 2008, 19.12.2008 [cit. 2009-05-13]. Dostupný z WWW: <http://www.financninoviny.cz/tema/index_view.php?id=351004&id_seznam=7034>.

- [37] *Jablonecký deník* [online]. 2005 , 25.4.2009 [cit. 2009-05-13]. Dostupný z WWW: <<http://jablonecky.denik.cz/podnikani/nakupni-kosik-a-dubna20090425.html>>.
- [38] *Zeus a Hádes - výrobky s probiotickou mikrobiální kulturou* [online]. KMOTR, 2005 [cit. 2009-05-13]. Dostupný z WWW: <<http://www.masna.cz/kmotr-probio.php>>.

5 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

ATP	adenosin-5'-trifosfát
C	cytosin
DNA	deoxyribonukleová kyselina
G	guanin
LAB	bakterie mléčného kvašení
MO	mikroorganismy
RNA	ribonukleová kyselina